

مقایسه‌ی نتایج دو روش دیسک دیفیوژن و E-test در تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی هلیکوباکتر پیلوری به سه آنتی‌بیوتیک مترونیدازول، کلاریترومایسین و آموکسی‌سیلین

فرزاد خادمی^۱، دکتر جمشید فقری^۲، دکتر فرخنده پورسینا^۳، معصومه مدحی^۴،
دکتر پیمان ادیبی^۵، دکتر حاجیه قاسمیان صفایی^۵

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: افزایش شیوع سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک مهم‌ترین عامل در تعیین نتیجه‌ی درمان با آنتی‌بیوتیک می‌باشد. بنابراین، استفاده از روش‌های قابل اعتماد، آسان، سریع و ارزان در تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی ضروری است. در حال حاضر هیچ توصیه‌ی استاندارد برای تست این ارگانیسم سخت‌گیر وجود ندارد و معیارهای تفسیری برای تعیین حساسیت یا مقاومت باکتری هنوز استاندارد نشده است. از روش‌های مرسوم در تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌ها استفاده از روش‌های دیسک دیفیوژن (Modified disk diffusion method یا MDDM) و E-test (Epsilonometer test) است. هدف از این مطالعه ارزیابی مقایسه‌ای نتایج روش‌های دیسک دیفیوژن و E-test برای تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های هلیکوباکتر پیلوری نسبت به سه آنتی‌بیوتیک مترونیدازول، کلاریترومایسین و آموکسی‌سیلین بود.

روش‌ها: در این مطالعه ۳۰ ایزوله‌ی هلیکوباکتر پیلوری از نمونه‌های بیوپسی جدا شد و حساسیت هلیکوباکتر پیلوری نسبت به مترونیدازول، کلاریترومایسین و آموکسی‌سیلین بر اساس پروتکل CLSI (Clinical and laboratory standards institute)، توسط روش‌های دیسک دیفیوژن و E-test مقایسه گردید. علاوه بر این حداقل غلظت مهار (MIC یا Minimum inhibitory concentration) برای ایزوله‌های مقاوم به سه آنتی‌بیوتیک تعیین شد.

یافته‌ها: ۳۰ ایزوله‌ی هلیکوباکتر پیلوری که تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی روی آن‌ها صورت گرفت در هر دو روش دیسک دیفیوژن و E-test، ۵۳/۳ درصد به مترونیدازول، ۱۶/۶ درصد به کلاریترومایسین و ۱۰ درصد نسبت به آموکسی‌سیلین مقاوم بودند.

نتیجه‌گیری: این بررسی نشان داد که هر دو روش تعیین حساسیت هلیکوباکتر پیلوری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مترونیدازول، کلاریترومایسین و آموکسی‌سیلین نتایج یکسانی داشتند. بنابراین در شرایط آزمایشگاه (In vitro) استفاده از روش دیسک دیفیوژن می‌تواند جایگزین روش E-test در تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی برای هلیکوباکتر پیلوری باشد.

واژگان کلیدی: هلیکوباکتر پیلوری، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، روش دیسک دیفیوژن، E-test

ارجاع: خادمی فرزاد، فقری جمشید، پورسینا فرخنده، مدحی معصومه، ادیبی پیمان، قاسمیان صفایی حاجیه. مقایسه‌ی نتایج دو روش دیسک دیفیوژن و E-test در تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی هلیکوباکتر پیلوری به سه آنتی‌بیوتیک مترونیدازول، کلاریترومایسین و آموکسی‌سیلین. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۱؛ ۳۰ (۲۲۲): ??

* این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد به شماره‌ی ۳۹۰۳۳۳۳ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروپزشناسی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشیار، گروه میکروپزشناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- مربی، گروه میکروپزشناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- استاد، گروه گوارش، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۵- دانشیار، گروه باکتری و ویروس‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: ghasemian@med.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر حاجیه قاسمیان صفایی

مقدمه

هلیکوباکتر پیلوری باکتری گرم منفی ساکن در معده حدود ۵۰ درصد جمعیت دنیا است. این باکتری عامل گاستریت، ۹۰ درصد زخم‌های دوازدهه و ۷۵ درصد زخم‌های معده است و به عنوان عامل خطر برای سرطان معده و آدنوکارسینومای معده شناخته می‌شود (۱-۴).

امروزه مقاومت آنتی بیوتیکی هلیکوباکتر پیلوری به یک مشکل جهانی تبدیل شده است و یک عامل مهم در تعیین نتیجه‌ی درمان می‌باشد. اگر چه هلیکوباکتر پیلوری به بیشتر عوامل ضد میکروبی در شرایط آزمایشگاهی حساس است اما حذف ارگانیزم در بدن مشکل می‌باشد. مؤثرترین درمان عفونت ناشی از این باکتری استفاده از درمان چند دارویی است که شامل ترکیبی از کلاریترومایسین، مترونیدازول یا آموکسی سیلین به علاوه‌ی مهارکننده‌ی پمپ پروتون مثل امپرازول است (۵-۷). استفاده از روش‌های قابل اعتماد و ارزان و آسان برای تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی هلیکوباکتر پیلوری ضروری است و تعیین حساسیت ضد میکروبی به خصوص زمانی که درمان شکست خورده است، مهم است (۸). تکنیک‌های متعددی برای شناسایی مقاومت آنتی بیوتیکی هلیکوباکتر پیلوری توسعه یافته‌اند. این روش‌ها به دو دسته‌ی آزمایش بر اساس کشت و آزمایش بر اساس اسید نوکلئیک تقسیم‌بندی می‌شوند. حساسیت آنتی بیوتیکی در هلیکوباکتر پیلوری به طور معمول به روش‌های مختلفی ارزیابی می‌شود. از روش‌های تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی می‌توان به دیسک دیفیوژن (MDDM) یا Modified disk diffusion method و E-test

(test)، (Epsilometer dilution)، Agar و

Broth micro dilution method اشاره کرد.

مقایسه‌ی نتایج مطالعات با استفاده از روش‌های دیسک دیفیوژن، E-test و Agar dilution همواره یکسان نیستند. همه این روش‌ها از نظر زمانی کند (نتایج به طور معمول بعد از ۶ تا ۱۰ روز به دست می‌آیند)، دشوار و پیچیده هستند و شکست آزمایش در حدود ۱۰ درصد از موارد به دلیل آلودگی نمونه‌های بیوپسی و یا عدم رشد هلیکوباکتر پیلوری اتفاق می‌افتد. روش‌هایی بر اساس اسید نوکلئیک مثل RFLP (Restriction fragment length polymorphism)، FISH (Fluorescence in situ hybridization)، RT-PCR (Real time-polymerase chain reaction) و PCR mismatch راه چاره هستند. این روش‌ها سریع‌تر و غیر وابسته به رشد باکتری هستند ولی به دلیل گرانی به صورت روتین انجام نمی‌شوند (۹).

هدف از این مطالعه ارزیابی مقایسه‌ای نتایج روش‌های MDDM و E-test برای تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی ایزوله‌های هلیکوباکتر پیلوری به سه آنتی بیوتیک مترونیدازول، کلاریترومایسین و آموکسی سیلین بود که بتوانند به صورت روتین در آزمایشگاه‌های بالینی انجام شوند.

روش‌ها

نمونه‌های بیوپسی از قسمت آنتروم معده‌ی ۱۳۰ بیمار با علایم گاسترواینتستینال از جمله گاستریت، زخم معده، زخم دوازدهه و سرطان معده که به بخش آندوسکوپی بیمارستان‌های شهر اصفهان بین مهر ۱۳۹۰ تا اردیبهشت ۱۳۹۱ مراجعه کرده بودند، به دست آمد. ابتدا یک نمونه جهت انجام تست آورده‌آز

سریع گرفته شد و در صورت مثبت بودن این تست نمونه‌ای دیگر از همان بیمار جهت انتقال به آزمایشگاه میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان در محیط انتقالی BHI broth (Brain-heart infusion broth) + ۲ درصد گلوکز صورت پذیرفت. این مطالعه توسط کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اصفهان مورد تأیید قرار گرفت و تمامی شرکت‌کنندگان فرم رضایت آگاهانه‌ی حضور در این تحقیق را امضا کردند.

نمونه‌های بیوپسی داخل محیط انتقالی BHI broth بین دو لام استریل له شدند و سپس روی محیط بروسلا آگار که حاوی ۵ درصد خون انسان، ۷ درصد سرم جنین گوساله (Fetal calf serum یا FCS) (بهارافشان، ایران) ۲ میلی گرم در لیتر ونکومایسین (Merck)، ۰/۰۵ میلی گرم در لیتر پلی میکسین (Merck) و ۱ میلی گرم در لیتر تری متوپریم (Merck) کشت داده شدند. سپس پلیت‌ها در شرایط میکروآنروفلیک (۵ درصد O_2 ، ۱۰ درصد CO_2 و ۸۵ درصد N_2) و در ۳۷ درجه‌ی سانتی گراد برای ۳ تا ۵ روز در دستگاه مارت انکوبه شدند.

باکتری‌های رشد کرده براساس مورفولوژی کلنی روی محیط کشت، رنگ آمیزی گرم و واکنش‌های بیوشیمیایی مثبت مثل اوره‌آز، کاتالاز و اکسیداز به عنوان هلیکوباکتر پیلوری شناسایی شدند.

روش MDDM برای ارزیابی حساسیت سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری به ۳ آنتی بیوتیک کلاریترومایسین (۱۵ میلی گرم)، مترونیدازول (۵ میلی گرم) و آموکسی سیلین (۱۰ میلی گرم) انتخاب شد.

برای این منظور سوسپانسیونی از باکتری در سالین استریل معادل با استاندارد ۳ مک‌فارلند تهیه گردید.

سپس سوسپانسیون توسط سوآپ روی محیط بروسلا آگار حاوی ۵ درصد خون انسان، ۷ درصد FCS پخش گردید. بعد از خشک شدن پلیت‌ها، دیسک‌های آنتی بیوتیک بر روی پلیت قرار داده شد و به مدت ۳-۵ روز در شرایط میکروآنروفلیک انکوبه گردید. سویه‌هایی مقاوم به مترونیدازول، کلاریترومایسین و آموکسی سیلین محسوب می‌شدند که قطر هاله‌ی عدم رشد آن‌ها به ترتیب کمتر از ۱۶ میلی متر، بدون هاله‌ی عدم رشد و کمتر از ۱۱ میلی متر بودند (۷). سویه‌ی استاندارد ۲۶۶۹۵ به عنوان کنترل کیفی مورد استفاده قرار گرفت.

برای انجام E-test سوسپانسیونی از باکتری خالص در محیط سالین استریل معادل با استاندارد ۳ مک‌فارلند آماده گردید. سپس سوسپانسیون روی محیط بروسلا آگار حاوی ۵ درصد خون انسان و ۷ درصد FCS پخش گردید. حداقل غلظت مهاري (Minimum inhibitory concentration یا MIC) هلیکوباکتر پیلوری برای آنتی بیوتیک‌های مختلف توسط نوارهای (AB Biodisk, Solana, Sweden) E-test ارزیابی گردید.

مقدار MIC در ایزوله‌های هلیکوباکتر پیلوری که به مترونیدازول، کلاریترومایسین و آموکسی سیلین مقاوم بودند به ترتیب بیشتر از ۴ میکروگرم در میلی لیتر، بیشتر یا مساوی ۱ میکروگرم در میلی لیتر و بیشتر از ۱ میکروگرم در میلی لیتر بود (۱۰).

یافته‌ها

تست حساسیت آنتی بیوتیکی برای ۳۰ ایزوله‌ی هلیکوباکتر پیلوری نسبت به آنتی بیوتیک‌های مختلف توسط روش‌های دیسک دیفیوژن و E-test

تعیین شد که در جدول ۱ ذکر شده است. تعداد سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری مقاوم به سه آنتی بیوتیک مترونیدازول، کلاریترومایسین و آموکسی سیلین در هر دو روش MDDM و E-test مشابه بود و تفاوتی نداشت.

ایزوله‌های هلیکوباکتر پیلوری مقاوم به کلاریترومایسین، دارای MIC: ۸، ۴، ۲، ۲ و ۱/۵، سویه‌های مقاوم به مترونیدازول، دارای MIC: ۱۲۸، ۶۴، ۳۲، ۲۴، ۱۲، ۸، ۶ و سویه‌های مقاوم به آموکسی سیلین دارای MIC: ۴ و ۲ میکروگرم در میلی لیتر بودند.

بحث

هلیکوباکتر پیلوری باکتری گرم منفی است که توانایی مقاومت به طیف وسیعی از داروهای ضد میکروبی را دارد. شیوع مقاومت آنتی بیوتیکی هلیکوباکتر پیلوری در مناطق مختلف جغرافیایی، متفاوت است و با مصرف آنتی بیوتیک ارتباط دارد (۱۱).

روش‌های تعیین حساسیت مختلفی در شرایط آزمایشگاهی مورد استفاده قرار گرفته‌اند که از جمله می‌توان به روش‌های Agar dilution، E-test و MDDM اشاره کرد. در حال حاضر هیچ توصیه‌ای استاندارد برای تست این ارگانیسم سخت گیر وجود

ندارد و معیارهای تفسیری برای تعیین حساسیت یا مقاومت باکتری هنوز استاندارد نشده‌اند. بنابراین مشکلات متعددی برای تست حساسیت آنتی بیوتیکی هلیکوباکتر پیلوری وجود دارد. استانداردسازی روش‌های تست بدین معنی که ساده و سریع باشند و بتوانند در آزمایشگاه‌ها به صورت روتین مورد استفاده قرار گیرند، این اجازه را می‌دهد تا شناسایی گونه‌های مقاوم سریع‌تر انجام شود و انتخاب روش‌های درمانی مؤثر که در حال حاضر مبرم‌ترین نیاز است، بهتر صورت گیرد (۱۲). همان طور که بیان شد روش مرجعی که برای تعیین حساسیت هلیکوباکتر پیلوری در برابر آنتی بیوتیک‌ها پیشنهاد شود وجود ندارد (۱۳). با این حال، روش Agar dilution به عنوان استاندارد طلایی در CLSI (Clinical and laboratory standards institute) در نظر گرفته شده است. لیکن، این روش نیز نیازمند صرف وقت و کار فشرده می‌باشد (۱۴). ثابت شده است که روش E-test یک روش دقیق برای تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی ارگانیسم‌های سخت رشد از جمله هلیکوباکتر پیلوری است. این روش برای تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی هلیکوباکتر پیلوری توصیه شده است و نتایج MIC قابل مقایسه‌ای را با روش Agar dilution در اختیار قرار می‌دهد.

جدول ۱. مقایسه‌ی نتایج تست حساسیت آنتی بیوتیکی با روش‌های MDDM و E-test در ۳۰ ایزوله‌ی هلیکوباکتر پیلوری

روش	MDDM		E-test	
	حساس	مقاوم	حساس	مقاوم
آنتی بیوتیک				
مترونیدازول	۱۴ (۴۶/۶)	۱۶ (۵۳/۳)	۱۴ (۴۶/۶)	۱۶ (۵۳/۳)
کلاریترومایسین	۲۵ (۸۳/۳)	۵ (۱۶/۶)	۲۵ (۸۳/۳)	۵ (۱۶/۶)
آموکسی سیلین	۲۷ (۹۰)	۳ (۱۰)	۲۷ (۹۰)	۳ (۱۰)

MDDM: Modified disk diffusion method

E-test: Epsilometer test

وجود دارد، این دو، روش‌های بسیار خوبی جهت جایگزینی با روش Agar dilution محسوب می‌شوند (۱۷-۱۸). مطالعات مختلف نشان داده‌اند که روش MDDM جایگزین خوبی برای تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری به خصوص به مترونیدازول است. همچنین با توجه به مطالعات قبلی انکوباسیون طولانی مدت قابلیت اطمینان را حتی زمانی که از E-test برای تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی استفاده می‌شود، در معرض خطر قرار می‌دهد (۱۲).

نتیجه گیری

در این مطالعه، ما نشان دادیم که استفاده از روش MDDM می‌تواند جایگزین روش E-test در تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی برای هلیکوباکتر پیلوری در شرایط In vitro باشد. بنابراین، با توجه به نتایج این مطالعه، روش MDDM به دلیل آسان، مقرون به صرفه بودن و عدم نیاز به وسایل و تکنیک‌های خاص برای تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری دارای اهمیت است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از اساتید و همکاران گروه میکروپزشکی و معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان اعلام می‌دارند.

اما به دلیل مقرون به صرفه نبودن استفاده از آن با محدودیت همراه است (۱۵، ۱۲). روش MDDM به دلیل سادگی کار و ارزان بودن، در هر محیط آزمایشگاهی برای تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی به صورت مرسوم مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۶). در مطالعه حاضر، از روش‌های MDDM و E-test برای تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی هلیکوباکتر پیلوری استفاده شد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که از ۳۰ ایزوله‌ی هلیکوباکتر پیلوری که تست حساسیت آنتی بیوتیکی روی آن‌ها صورت گرفت در هر دو روش MDDM و E-test ۵۳/۳ درصد به مترونیدازول ۱۶/۶ درصد به کلاریترومایسین و ۱۰ درصد به آموکسی سیلین مقاوم بودند. در مطالعه‌ی Mishra و همکاران ارتباط بسیار خوبی بین نتایج روش‌های MDDM و E-test مشاهده گردید. در این مطالعه تطابق ۱۰۰ درصد برای آنتی بیوتیک آموکسی سیلین و تطابق ۹۵ درصد و ۹۰ درصد به ترتیب برای مترونیدازول و کلاریترومایسین گزارش شد (۱۲).

در مطالعات متعددی ثابت شده است که اگر چه CLSI روش Agar dilution را به عنوان روش مرجع و انتخابی برای تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی هلیکوباکتر پیلوری توصیه کرده است، با این حال به دلیل محدودیت استفاده از آن و نیز به دلیل این که یک ارتباط خوب بین روش‌های MDDM و E-test

References

1. Duck WM, Sobel J, Pruckler JM, Song Q, Swerdlow D, Friedman C, et al. Antimicrobial resistance incidence and risk factors among *Helicobacter pylori*-infected persons, United States. *Emerg Infect Dis* 2004; 10(6): 1088-94.
2. Fallahi GH, Maleknejad S. *Helicobacter pylori* culture and antimicrobial resistance in Iran. *Indian J Pediatr* 2007; 74(2): 127-30.
3. Hosseini E, Poursina F, de Wiele TV, Safaei HG, Adibi P. *Helicobacter pylori* in Iran: A systematic review on the association of genotypes and gastroduodenal diseases. *J Res Med Sci* 2012; 17(3): 280-92.
4. Yamaoka Y. Mechanisms of disease:

- Helicobacter pylori* virulence factors. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7(11): 629-41.
5. Debets-Ossenkopp YJ, Sparrius M, Kusters JG, Kolkman JJ, Vandenbroucke-Grauls CM. Mechanism of clarithromycin resistance in clinical isolates of *Helicobacter pylori*. *FEMS Microbiol Lett* 1996; 142(1): 37-42.
 6. Taylor DE, Ge Z, Purych D, Lo T, Hiratsuka K. Cloning and sequence analysis of two copies of a 23S rRNA gene from *Helicobacter pylori* and association of clarithromycin resistance with 23S rRNA mutations. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41(12): 2621-8.
 7. Tomatari FH, Mobarez AM, Amini M, Hosseini D, Talebi Bezmin Abadi A. *Helicobacter pylori* resistance to metronidazole and clarithromycin in dyspeptic patients in Iran. *Iran Red Crescent Med J* 2010; 12(4): 409-12.
 8. Lang L, Garcia F. Comparison of E-test and disk diffusion assay to evaluate resistance of *Helicobacter pylori* isolates to amoxicillin, clarithromycin, metronidazole and tetracycline in Costa Rica. *Int J Antimicrob Agents* 2004; 24(6): 572-7.
 9. Gerrits MM, van Vliet AH, Kuipers EJ, Kusters JG. *Helicobacter pylori* and antimicrobial resistance: molecular mechanisms and clinical implications. *Lancet Infect Dis* 2006; 6(11): 699-709.
 10. E-test technical guide 8. Susceptibility testing of *Helicobacter pylori*. Solna, Sweden: AB Biodisk; 2000.
 11. Sirous M, Mehrabadi JF, Daryani N, Eshraghi S, Hajikhani S, Shirazi M. Prevalence of antimicrobial resistance in *Helicobacter pylori* isolates from Iran. *Afr J Biotechnol* 2011; 9(36): 5962-5.
 12. Mishra KK, Srivastava S, Garg A, Ayyagari A. Antibiotic susceptibility of *Helicobacter pylori* clinical isolates: comparative evaluation of disk-diffusion and E-test methods. *Curr Microbiol* 2006; 53(4): 329-34.
 13. Alarcon T, Domingo D, Lopez-Brea M. Antibiotic resistance problems with *Helicobacter pylori*. *Int J Antimicrob Agents* 1999; 12(1): 19-26.
 14. Glupczynski Y, Broutet N, Cantagrel A, Andersen LP, Alarcon T, Lopez-Brea M, et al. Comparison of the E test and agar dilution method for antimicrobial susceptibility testing of *Helicobacter pylori*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002; 21(7): 549-52.
 15. Osato MS, Reddy R, Reddy SG, Penland RL, Graham DY. Comparison of the Etest and the NCCLS-approved agar dilution method to detect metronidazole and clarithromycin resistant *Helicobacter pylori*. *Int J Antimicrob Agents* 2001; 17(1): 39-44.
 16. Yakoob J, Fan X, Hu G, Liu L, Zhang Z. Antibiotic susceptibility of *Helicobacter pylori* in the Chinese population. *J Gastroenterol Hepatol* 2001; 16(9): 981-5.
 17. Perna F, Gatta L, Figura N, Ricci C, Tampieri A, Holton J, et al. Susceptibility of *Helicobacter pylori* to metronidazole. *Am J Gastroenterol* 2003; 98(10): 2157-61.
 18. Khashei R, Shojaei H, Adibi P, Shavakhi A, Aslani MM, Daei Naser A. Genetic diversity and drug resistance of *Helicobacter pylori* strains in Isfahan, Iran. *Iran J Basic Med Sci* 2008; 11(3): 174-82.

Comparative Evaluation of Disk Diffusion and E-Test in Determining the Susceptibility of Helicobacter Pylori to Metronidazole, Clarithromycin and Amoxicillin

Farzad Khademi¹, Jamshid Faghri PhD², Farkhondeh Poursina PhD³, Masoumeh Madhi¹, Peyman Adibi MD⁴, Hajieh Ghasemian Safaei PhD⁵

Original Article

Abstract

Background: Increasing prevalence of antibiotic-resistant Helicobacter pylori strains have severe consequences. It is also the most important factor in determining the outcome of treatment with antibiotics. Therefore, using reliable, easy, fast, and inexpensive methods to determine of antibiotic susceptibility is crucial. Currently, there is no standard recommended for testing these fastidious organisms and interpretive criteria for determining the susceptibility or resistance of bacteria is not yet standardized. Among conventional methods to assess antibiotic susceptibility of bacteria are modified disk diffusion method (MDDM) and E-test. The aim of this study was to compare the results of MDDM and E-test in determining the susceptibility of Helicobacter pylori to metronidazole, clarithromycin, and amoxicillin.

Methods: We collected 30 Helicobacter pylori isolates from biopsy specimens. MDDM and E-test were then used to detect the susceptibility of the isolates to metronidazole, clarithromycin, and amoxicillin. The results were compared according to the Clinical and Laboratory Standards Institute protocols.

Findings: In both MDDM and E-test, Helicobacter pylori resistance to metronidazole, clarithromycin, and amoxicillin was 53.3%, 16.6%, and 10.0%, respectively. In addition, the minimum inhibitory concentration was determined for isolates resistant to three antibiotics.

Conclusion: MDDM and E-test had similar results regarding the susceptibility of Helicobacter pylori to metronidazole, clarithromycin, and amoxicillin. Thus, for determination of antibiotic resistance of Helicobacter pylori isolates, disk diffusion method could be replaced with E-test.

Keywords: Helicobacter pylori, Antibiotic resistance, Modified disk diffusion method, E-test

Citation: Khademi F, Faghri J, Poursina F, Madhi M, Adibi P, Ghasemian Safaei H. **Comparative Evaluation of Disk Diffusion and E-Test in Determining the Susceptibility of Helicobacter Pylori to Metronidazole, Clarithromycin and Amoxicillin.** J Isfahan Med Sch 2013; 30(222): ??.

* This paper is derived from a MSc thesis No. 390333 in Isfahan University of Medical Sciences.

1- MSc Student, Department of Microbiology, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Associate Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Instructor, Department of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- Professor, Department of Gastroenterology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

5- Associate Professor, Department of Bacteriology and Virology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Hajieh Ghasemian Safaei PhD, Email: ghasemian@med.mui.ac.ir